

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2001-281233

(43)Date of publication of application : 10.10.2001

(51)Int.Cl.

G01N 31/20
B01D 11/02
G01N 35/08
// C12M 1/00

(21)Application number : 2000-089078

(71)Applicant : INST OF PHYSICAL & CHEMICAL
RES

(22)Date of filing : 28.03.2000

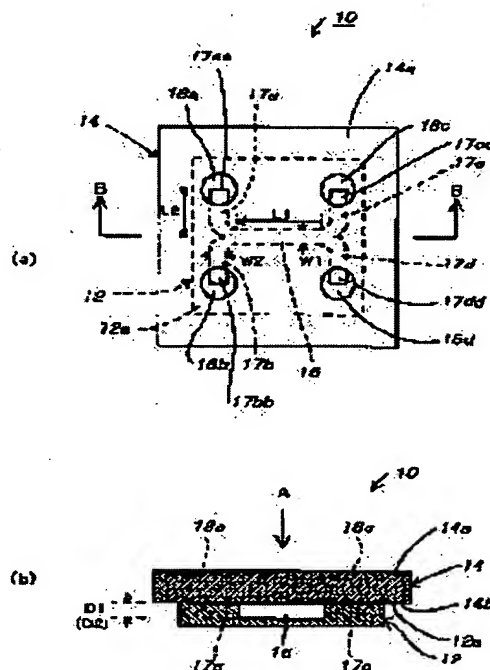
(72)Inventor : SEKI MINORU
KAKIGI YASUHIRO
KO JONUKU
FUJII TERUO
ENDO ISAO

(54) MICROCHIP FOR WATER DISTRIBUTION AND WATER DISTRIBUTION METHOD USING IT

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To shorten the treatment time when a treatment to distribute very small substances such as particles, molecules or the like of a cell, an organella, a protein, a nucleic acid or the like is executed.

SOLUTION: The microchip comprises a microchannel, in a prescribed shape, which is formed on a plane boardlike substrate. The microchip comprises a plurality of branch channels, in a prescribed shape, which are formed on the substrate and which are connected to the end part, on one side, of the microchannel. The microchip comprises a plurality of branch channels, in a prescribed shape, which are formed on the substrate and which are connected to the end part, on the other side, of the microchannel.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 22.03.2001

[Date of sending the examiner's decision of rejection] 02.09.2003

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision
of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2001-281233

(P 2 0 0 1 - 2 8 1 2 3 3 A)

(43) 公開日 平成13年10月10日 (2001. 10. 10)

(51) Int. Cl. ⁷	識別記号	F I	テーマコード [*] (参考)
G01N 31/20		G01N 31/20	2G042
B01D 11/02		B01D 11/02	A 2G058
G01N 35/08		G01N 35/08	A 4B029
// C12M 1/00		C12M 1/00	A 4D056

審査請求 有 請求項の数 9 O L (全11頁)

(21) 出願番号 特願2000 89078 (P 2000 89078)
(22) 出願日 平成12年 3 月 28 日 (2000. 3. 28)

(71) 出願人 000006792
理化学研究所
埼玉県和光市広沢 2 番 1 号
(72) 発明者 関 実
東京都世田谷区北沢 2 - 37 19
(72) 発明者 柿木 康宏
東京都世田谷区祖師谷 1 - 26 27 206
(72) 発明者 洪 ▲じょん▼▲うく▼
東京都文京区大塚 3 - 34 - 9 - 803
(72) 発明者 藤井 輝夫
東京都目黒区上目黒 5 - 17 - 1 - 207
(74) 代理人 100087000
弁理士 上島 淳一

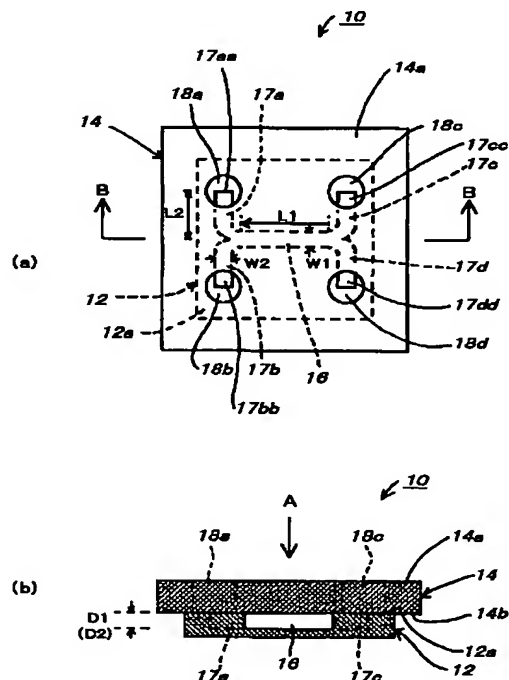
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 水性分配用マイクロチップおよびそれを用いた水性分配方法

(57) 【要約】

【課題】 細胞、オルガネラ、タンパク質あるいは核酸などの粒子や分子などのような微小物を分配する処理を行う際における処理時間を短縮化する。

【解決手段】 平板状の基板に形成された所定の形状のマイクロチャネルと、上記基板に形成されるとともに、上記マイクロチャネルの一方の端部に接続された所定の形状の複数の分岐チャネルと、上記基板に形成されるとともに、上記マイクロチャネルの他方の端部に接続された所定の形状の複数の分岐チャネルとを有する。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】 平板状の基板に形成された所定の形状のマイクロチャンネルと、

前記基板に形成されるとともに、前記マイクロチャンネルの一方の端部にのみ接続された所定の形状の複数の分岐チャンネルとを有する水性分配用マイクロチップ。

【請求項 2】 平板状の基板に形成された所定の形状のマイクロチャンネルと、

前記基板に形成されるとともに、前記マイクロチャンネルの一方の端部に接続された所定の形状の複数の分岐チャンネルと、

前記基板に形成されるとともに、前記マイクロチャンネルの他方の端部に接続された所定の形状の複数の分岐チャンネルとを有する水性分配用マイクロチップ。

【請求項 3】 請求項 2 に記載の水性分配用マイクロチップにおいて、

前記マイクロチャンネルの一方の端部に接続された複数の分岐チャンネルの数と前記マイクロチャンネルの他方の端部に接続された複数の分岐チャンネルの数とが一致するものである水性分配用マイクロチップ。

【請求項 4】 請求項 2 に記載の水性分配用マイクロチップにおいて、

前記マイクロチャンネルの一方の端部に接続された複数の分岐チャンネルの数と前記マイクロチャンネルの他方の端部に接続された複数の分岐チャンネルの数とが異なるものである水性分配用マイクロチップ。

【請求項 5】 請求項 1、2、3 または 4 のいずれか 1 項に記載の水性分配用マイクロチップにおいて、さらに、

前記基板の上面に配設される平板状の表面板とを有し、前記基板の上面に形成された前記マイクロチャンネルおよび前記複数の分岐チャンネルを前記表面板によって封止したものである水性分配用マイクロチップ

【請求項 6】 請求項 1、2、3、4 または 5 のいずれか 1 項に記載の水性分配用マイクロチップを用いた水性分配方法であって、

前記分岐チャンネルのそれぞれに相分離した各相の水溶液をそれぞれ供給し、

前記水溶液が前記マイクロチャンネル内において相分離した状態で移動しながら、前記水溶液に混入された微小物を各相に分配するものである水性分配用マイクロチップを用いた水性分配方法。

【請求項 7】 請求項 6 に記載の水性分配用マイクロチップを用いた水性分配方法において、

前記水溶液が前記マイクロチャンネル内において相分離した状態で移動する際に、界面を介して隣接する相同士の移動の向きが同じ向きとなる並流であるものである水性分配用マイクロチップを用いた水性分配方法。

【請求項 8】 請求項 6 に記載の水性分配用マイクロチップを用いた水性分配方法において、

前記水溶液が前記マイクロチャンネル内において相分離した状態で移動する際に、界面を介して隣接する相同士の移動の向きが反対向きとなる向流であるものである水性分配用マイクロチップを用いた水性分配方法。

【請求項 9】 請求項 6 に記載の水性分配用マイクロチップを用いた水性分配方法において、

前記水溶液が前記マイクロチャンネル内において相分離した状態で移動する際に、界面を介して隣接する相同士の移動の向きが同じ向きとなる並流と、界面を介して隣接する相同士の移動の向きが反対向きとなる向流とが混在するものである水性分配用マイクロチップを用いた水性分配方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、水性分配用マイクロチップおよびそれを用いた水性分配方法に関し、さらに詳細には、細胞、オルガネラ、タンパク質あるいは核酸などの粒子や分子などのような微小物を分配する際に用いて好適な水性分配用マイクロチップおよびそれを用いた水性分配方法に関する。

【0002】なお、本明細書においては、適宜に、「細胞、オルガネラ、タンパク質あるいは核酸などの粒子や分子などのような微小物」を総称して、単に「微小物」と称することとするが、こうした微小物としては、より具体的には、例えば、大腸菌、酵母などの微生物、各種の動植物培養細胞、ミトコンドリア、クロロプラストなどのオルガネラ、アルブミン、インスリンなどのタンパク質、DNA、RNAなどの核酸などが挙げられる。

【0003】

【従来の技術】一般に、細胞、オルガネラ、タンパク質あるいは核酸などの粒子や分子などのような微小物を分配する技術は、基礎研究のみならず、医学上における診断の分野などで重要な技術として認識されている。

【0004】また、こうした微小物を分配する技術は、環境分析や物質の生産のための培養細胞の選抜技術などの分野への応用が大いに期待されている。

【0005】ところで、従来の微小物を分配する技術としては、例えば、水性 2 相分配法が知られている。

【0006】ここで、水性 2 相分配法とは、例えば、ポリエチレングリコール (PEG: polyethylene glycol) 水溶液とデキストラン (dextran) 水溶液とを用いた水性 2 相系を構築し、これら 2 相の水溶液を混合して物質を移動させ、その後、両相の水溶液を上相と下相との 2 相に分離するという二段階の工程をとるものである。

【0007】こうした水性 2 相分配法は、上記した細胞などの微小物をその大きさや表面電荷ならびに親疎水性などの違いによって、上相と下相とそれらの境界面（界面）とに分配することができ、緩和な条件での大量処理を行うことができる点で優れたものである。

【0008】しかしながら、従来の水性2相分配法においては、物性の近い2相の水溶液の分離に長時間を要するため、全体の処理時間が長くなるという問題点があった。

【0009】また、従来の水性2相分配法を多段化して行う際には、各段毎において上記した二段階の工程を行う必要があるため、多段化が煩雑となり困難であるという問題点があった。

【0010】さらにまた、従来の水性2相分配法においては、上記した二段階の工程を行う必要があるため処理の操作が煩雑となり、処理の操作を自動化して行うことが困難であるという問題点があった。

【0011】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、従来の技術の有する上記したような種々の問題点に鑑みてなされたものであり、その目的とするところは、細胞、オルガネラ、タンパク質あるいは核酸などの粒子や分子などのような微小物を分配する処理を行う際における処理時間を短縮化することができるようにした水性分配用マイクロチップおよびそれを用いた水性分配方法を提供しようとするものである。

【0012】また、本発明の目的とするところは、細胞、オルガネラ、タンパク質あるいは核酸などの粒子や分子などのような微小物を分配する処理を多段化するのに適した水性分配用マイクロチップおよびそれを用いた水性分配方法を提供しようとするものである。

【0013】さらにまた、本発明の目的とするところは、細胞、オルガネラ、タンパク質あるいは核酸などの粒子や分子などのような微小物を分配する処理を自動化するのに適した水性分配用マイクロチップおよびそれを用いた水性分配方法を提供しようとするものである。

【0014】

【課題を解決するための手段】上記目的を達成するために、本発明は、各種の水溶液を用いた水性2相の水性2相分配系や水性3相以上の水性多相分配系（なお、以下においては、「各種の水溶液を用いた水性2相や水性3相以上の水性多相」を「水性複相」と適宜称することとし、「各種の水溶液を用いた水性2相の水性2相分配系や水性3相以上の水性多相分配系」を「水性複相分配系」と適宜称することとする。）における各相の界面近傍においては、各相の水溶液の混合を行わなくても、微小物の大きさや表面電荷ならびに親疎水性などの違いによって、微小物の分配が生じていることに着目してなされたものであり、水性分配用マイクロチップ上に形成されたマイクロチャンネル内に安定な水性複相分配系を構築し、このマイクロチャンネル内において各相の水溶液をそれぞれ移動させることにより各相の水溶液の体積当たりの界面積を増大させるようにして、各相の水溶液を混合することなく、体積当たりの面積が大きな界面において、連続的に細胞、オルガネラ、タンパク質あるいは核

酸などの粒子や分子などのような微小物を分配することを可能にしたものである。

【0015】ここで、マイクロチャンネル内において各相の水溶液を流して移動させる際には、界面を介して隣接する相同士の移動の向きが同じ向きとなるように移動させる（なお、界面を介して隣接する相同士の移動の向きが同じ向きとなるような移動の流れを、本明細書においては「並流」と称する。）ようにしてもよいし、界面を介して隣接する相同士の移動の向きが反対向きとなるように移動させる（なお、界面を介して隣接する相同士の移動の向きが反対向きとなるような移動の流れを、本明細書においては「向流」と称する。）ようにしてもよいし、並流と向流とが混在するようにしてもよい。

【0016】即ち、本発明のうち請求項1に記載の発明は、平板状の基板に形成された所定の形状のマイクロチャンネルと、上記基板に形成されるとともに、上記マイクロチャンネルの一方の端部にのみ接続された所定の形状の複数の分岐チャンネルとを有するようにしたものである。

【0017】また、本発明のうち請求項2に記載の発明は、平板状の基板に形成された所定の形状のマイクロチャンネルと、上記基板に形成されるとともに、上記マイクロチャンネルの一方の端部に接続された所定の形状の複数の分岐チャンネルと、上記基板に形成されるとともに、上記マイクロチャンネルの他方の端部に接続された所定の形状の複数の分岐チャンネルとを有するようにしたものである。

【0018】ここで、上記マイクロチャンネルの一方の端部に接続された複数の分岐チャンネルの数と上記マイクロチャンネルの他方の端部に接続された複数の分岐チャンネルの数とは、本発明のうち請求項3に記載の発明のように、両者が一致するようにしてもよい。

【0019】また、上記マイクロチャンネルの一方の端部に接続された複数の分岐チャンネルの数と上記マイクロチャンネルの他方の端部に接続された複数の分岐チャンネルの数とは、本発明のうち請求項4に記載の発明のように、両者が異なるようにしてもよい。

【0020】また、本発明のうち請求項5に記載の発明は、本発明のうち請求項1、2、3または4のいずれか1項に記載の発明において、さらに、上記基板の上面に配設される平板状の表面板とを有し、上記基板の上面に形成された上記マイクロチャンネルおよび上記複数の分岐チャンネルを上記表面板によって封止するようにしたものである。

【0021】また、本発明のうち請求項6に記載の発明は、本発明のうち請求項1、2、3、4または5のいずれか1項に記載の発明による水性分配用マイクロチップを用いて、上記分岐チャンネルのそれぞれに相分離した各相の水溶液をそれぞれ供給し、上記水溶液が上記マイクロチャンネル内において相分離した状態で移動しながら、

上記水溶液に混入された微小物を各相に分配するようにしたものである。

【0022】また、本発明のうち請求項7に記載の発明は、本発明のうち請求項6に記載の発明において、上記水溶液が上記マイクロチャネル内において相分離した状態で移動する際に、界面を介して隣接する相同士の移動の向きが同じ向きとなる並流であるようにしたものである。

【0023】また、本発明のうち請求項8に記載の発明は、本発明のうち請求項6に記載の発明において、上記水溶液が上記マイクロチャネル内において相分離した状態で移動する際に、界面を介して隣接する相同士の移動の向きが反対向きとなる向流であるようにしたものである。

【0024】また、本発明のうち請求項9に記載の発明は、本発明のうち請求項6に記載の発明において、上記水溶液が上記マイクロチャネル内において相分離した状態で移動する際に、界面を介して隣接する相同士の移動の向きが同じ向きとなる並流と、界面を介して隣接する相同士の移動の向きが反対向きとなる向流とが混在する

ようにしたものである。

【0025】

【発明の実施の形態】以下、添付の図面に基づいて、本発明による水性分配用マイクロチップおよびそれを用いた水性分配方法の実施の形態を詳細に説明するものとする。

【0026】図1(a)(b)には、本発明による水性分配用マイクロチップの第一の実施の形態が示されており、図1(a)は図1(b)におけるA矢視図であり、図1(b)は図1(a)におけるB-B線による断面図である。

【0027】この水性分配用マイクロチップ10は、高分子(ポリマー)材料、例えば、PDMS(ポリジメチルシロキサン)により形成された平板状の基板12と、この基板12の上面12aに配設されるPMMA(ポリメチルメタクリレート)により形成された平板状の表面板14とを有して構成されている。

【0028】そして、基板12の上面12aには、マイクロチャネルとして、所謂、I字型状の直線型流路を構成するマイクロチャネル16が形成されている。

【0029】ここで、マイクロチャネル16の一方の端部側は二股に分岐されて、第1分岐チャネル17aと第2分岐チャネル17bとが形成されており、また、マイクロチャネル16の他方の端部側も二股に分岐されて、第3分岐チャネル17cと第4分岐チャネル17dとが形成されている。

【0030】そして、上記のようにして基板12の上面12aに形成されたマイクロチャネル16、第1分岐チャネル17a、第2分岐チャネル17b、第3分岐チャネル17cおよび第4分岐チャネル17dは、表面板1

4によって封止(シール)されているものである。

【0031】また、表面板14には、表面板14の上面14aから下面14bへ貫通するようにして形成された開口部として、水性分配用の各種の水溶液を導入あるいは排出するための4つのポートたる第1ポート18a、第2ポート18b、第3ポート18cおよび第4ポート18dが穿設されている。

【0032】ここで、第1ポート18a、第2ポート18b、第3ポート18cおよび第4ポート18dと、第1分岐チャネル17a、第2分岐チャネル17b、第3分岐チャネル17cおよび第4分岐チャネル17dとは、第1ポート18aの一部に第1分岐チャネル17aの端部17aaが位置し、第2ポート18bの一部に第2分岐チャネル17bの端部17bbが位置し、第3ポート18cの一部に第3分岐チャネル17cの端部17ccが位置し、第4ポート18dの一部に第4分岐チャネル17dの端部17ddが位置するように寸法設定されて配置されており、第1ポート18aと第1分岐チャネル17aの端部17aaとが連通し、第2ポート18bと第2分岐チャネル17bの端部17bbとが連通し、第3ポート18cと第3分岐チャネル17cの端部17ccとが連通し、第4ポート18dと第4分岐チャネル17dの端部17ddとが連通するようになされている。

【0033】また、マイクロチャネル16の長さL1は、例えば、10mmに設定され、マイクロチャネル16の幅W1は、例えば、400 μ mに設定され、マイクロチャネル16の深さD1は、例えば、180 μ mに設定されている。

【0034】一方、第1分岐チャネル17a、第2分岐チャネル17b、第3分岐チャネル17cおよび第4分岐チャネル17dの長さL2は、例えば、5mmに設定され、第1分岐チャネル17a、第2分岐チャネル17b、第3分岐チャネル17cおよび第4分岐チャネル17dの幅W2は、例えば、200 μ mに設定され、第1分岐チャネル17a、第2分岐チャネル17b、第3分岐チャネル17cおよび第4分岐チャネル17dの深さD2は、例えば、180 μ mに設定されている。

【0035】なお、マイクロチャネル16の長さL1や第1分岐チャネル17a、第2分岐チャネル17b、第3分岐チャネル17cおよび第4分岐チャネル17dの長さL2は、特に限定されるものではなく、必要に応じて任意の長さに設定することができるものであり、例えば、1mm~1000mmの間の任意の値に設定することが可能である。

【0036】また、マイクロチャネル16の幅W1や第1分岐チャネル17a、第2分岐チャネル17b、第3分岐チャネル17cおよび第4分岐チャネル17dの幅W2も、特に限定されるものではなく、必要に応じて任意の大きさの幅に設定することができるものであり、例

えば、 $1\mu\text{m}$ ～ $1000\mu\text{m}$ の間の任意の値に設定することが可能である。

【0037】さらにまた、マイクロチャンネル16の深さD1や第1分岐チャンネル17a、第2分岐チャンネル17b、第3分岐チャンネル17cおよび第4分岐チャンネル17dの深さD2も、特に限定されるものではなく、必要に応じて任意の大きさの深さに設定することができるものであり、例えば、 $1\mu\text{m}$ ～ 5mm の間の任意の値に設定することができる。

【0038】次に、上記した水性分配用マイクロチップ10は、例えば、図2(a)(b)(c)(d)(e)を参照しながら説明する製造プロセスにより製造することができるものであるが、その製造プロセスに先だって、まず水性分配用マイクロチップ10におけるマイクロチャンネル16、第1分岐チャンネル17a、第2分岐チャンネル17b、第3分岐チャンネル17cおよび第4分岐チャンネル17dのレイアウトのパターンを、フォトリソグラフィーマスクとして利用するために、高解像度、例えば、 4064dpi で透明フィルムに印刷しておくものである。

【0039】以下、上記したPDMSにより形成された基板12を備えた水性分配用マイクロチップ10を形成するためのプロセスについて、詳細に説明することとする。

【0040】図2(a)(b)(c)(d)(e)には、水性分配用マイクロチップ10の製造プロセスの概略が示されている。

【0041】はじめに、 $20\text{mm}\times 20\text{mm}$ のシリコン(Si)ウエハをオープンで乾燥させ(図2(a))、ネガティブフォトレジストSU-8を 500rpm で10秒間、 1500rpm で10秒間スピン塗布し、その後、 90°C のオープンで30分間保温する(図2(b))。

【0042】ところで、この第一の実施の形態においては、この操作によって、 $180\mu\text{m}$ の深さのマイクロチャンネル16、第1分岐チャンネル17a、第2分岐チャンネル17b、第3分岐チャンネル17cおよび第4分岐チャンネル17dの構造が作成される。

【0043】次に、マスク上に印刷した水性分配用マイクロチップ10におけるレイアウトのパターンは、マスクアライナー(なお、マスクアライナーとしては、例えば、「PEM-800; Union Optical Co., Tokyo, Japan」を用いることができる。)を用いて、SU-8を塗布したシリコンウエハにフォトリソグラフィーマスクの手法で転写し、1-メトキシ-2-プロピル酢酸中に20分間入れ現像した(図2(c))。

【0044】こうして作製したマスターは、イソプロピルアルコール、引き続いて、蒸留水で洗浄した。

【0045】次に、PDMSのプレポリマーを注ぎ入れ

る前に、RIE(Reactive Ion Etching: 反応性イオンエッチング)システムを用いて、このマスターをフルオロカーボンで処理した。

【0046】なお、フルオロカーボン処理は、型取り後のPDMSレプリカの取り外しに役に立つ。

【0047】それから、PDMSのプレポリマーとキュアリング試薬(キュアリング試薬としては、例えば、「Sylgard 184; Dow Corning Co., MI」を用いることができる。)とを「10:1」の割合で混合し、十分に攪拌した後に15分間だけ真空脱気してプレポリマー混合液を作成する。こうして作成されたプレポリマー混合液をマスター上に注ぎ、 65°C で1時間、それから 95°C で15分間キュアリングを行った(図2(d))。

【0048】上記したキュアリングの後に、PDMSレプリカをマスターから引き剥がすことにより、PDMSの基板12が得られることになる。そして、このPDMSの基板12を、第1ポート18a、第2ポート18b、第3ポート18cおよび第4ポート18dが穿設されたPMMAの表面板14に被せて取り付けて、マイクロチャンネル16、第1分岐チャンネル17a、第2分岐チャンネル17b、第3分岐チャンネル17cおよび第4分岐チャンネル17dを封止(シール)するものである(図2(e))。

【0049】なお、この第一の実施の形態において「マイクロチャンネル16、第1分岐チャンネル17a、第2分岐チャンネル17b、第3分岐チャンネル17cおよび第4分岐チャンネル17dを封止(シール)する」とは、マイクロチャンネル16、第1分岐チャンネル17a、第2分岐チャンネル17b、第3分岐チャンネル17cおよび第4分岐チャンネル17dを完全に密閉することを意味するものではなく、第1ポート18aと第1分岐チャンネル17aの端部17aaとが連通し、第2ポート18bと第2分岐チャンネル17bの端部17bbとが連通し、第3ポート18cと第3分岐チャンネル17cの端部17ccとが連通し、第4ポート18dと第4分岐チャンネル17dの端部17ddとが連通するようになされている。

【0050】さらに、RIEシステムを用いてPMMAの表面板14に貼り付けたPDMSの基板12を酸素プラズマで酸化することにより、マイクロチャンネル16、第1分岐チャンネル17a、第2分岐チャンネル17b、第3分岐チャンネル17cおよび第4分岐チャンネル17dを酸素プラズマで酸化して、マイクロチャンネル16、第1分岐チャンネル17a、第2分岐チャンネル17b、第3分岐チャンネル17cおよび第4分岐チャンネル17dの表面を親水化することもできる。

【0051】なお、マイクロチャンネル16、第1分岐チャンネル17a、第2分岐チャンネル17b、第3分岐チャンネル17cおよび第4分岐チャンネル17dの表面を親水化の手法は、上記したように酸素プラズマで酸化する手

法に限られるものではなく、適宜に他の手法を用いることができる。

【0052】以上の構成において、上記した水性分配用マイクロチップ10を用いて細胞、オルガネラ、タンパク質あるいは核酸などの粒子や分子などのような微小物を分配する水性分配方法について説明する。

【0053】即ち、水性分配用マイクロチップ10を用いて微小物の水性分配を行うには、まず始めに、安定した水性2相系を構築することができるように調整されて相分離した水性2相溶液、例えば、ポリエチレングリコールとデキストランとの水性2相溶液を用意する。なお、この水溶液には、必要に応じて硫酸リチウムなどを添加するようにしてもよい。

【0054】そして、上記のようにして用意した相分離した第1の相たるポリエチレングリコールがリッチな水溶液と第2の相たるデキストランがリッチな水溶液との両方、あるいは、いずれか一方には、分配対象としての微小物が混入されている。

【0055】次に、ポリエチレングリコールがリッチな水溶液を第1ポート18aから第1分岐チャンネル17a内に供給するとともに、デキストランがリッチな水溶液を第2ポート18bから第2分岐チャンネル17b内に供給する。なお、これらポリエチレングリコールがリッチな水溶液の第1分岐チャンネル17a内への供給とデキストランがリッチな水溶液の第2分岐チャンネル17b内への供給とは、両者を同時に開始してもよいし、いずれか一方を先に開始し、所定時間の経過後に他方を開始するようにしてもよい。また、微小物の水溶液あるいは懸濁液として、2相の界面から導入してもよい。

【0056】上記のようにしてポリエチレングリコールがリッチな水溶液が第1分岐チャンネル17a内へ導入され、デキストランがリッチな水溶液が第2分岐チャンネル17b内へ導入されると、ポリエチレングリコールがリッチな水溶液とデキストランがリッチな水溶液とはマイクロチャンネル16内へと順次に移動していく。

【0057】ここで、ポリエチレングリコールがリッチな水溶液とデキストランがリッチな水溶液とは、図3に示すように、界面100を介してポリエチレングリコールがリッチな相102とデキストランがリッチな相104との2相に分離している相分離した状態でマイクロチャンネル16内を、例えば、実線矢印C方向にそれぞれ進行していくものである。即ち、ポリエチレングリコールがリッチな相102とデキストランがリッチな相104とは、マイクロチャンネル16内において並流となっている。

【0058】そして、界面100の近傍においては、ポリエチレングリコールがリッチな水溶液およびデキストランがリッチな水溶液の両方あるいはいずれか一方に混入された微小物200は、その大きさや表面電荷ならびに親疎水性などの性質に応じて図3において破線矢印で

示すように、ポリエチレングリコールがリッチな相102から界面100やデキストランがリッチな相104へ移動したり、あるいは、デキストランがリッチな相104から界面100やポリエチレングリコールがリッチな相102へ移動したりして、微小物の性質に応じた分配が行われることになる。

【0059】即ち、水性分配用マイクロチップ10上に形成されたマイクロチャンネル16内に安定な水性複相分配系が形成されることになり、このマイクロチャンネル16内においてポリエチレングリコールがリッチな相102とデキストランがリッチな相104とが移動することによって、ポリエチレングリコールがリッチな相102とデキストランがリッチな相104との体積当たりの界面面積が増大するようになるので、ポリエチレングリコールがリッチな水溶液とデキストランがリッチな水溶液とを混合することなく、体積当たりの面積が大きな界面において連続的に微小物200を分配することができる。

【0060】そして、マイクロチャンネル16内を移動していったポリエチレングリコールがリッチな相102は、第3分岐チャンネル17cを通過して第3ポート18cから水性分配用マイクロチップ10の外部へ流出され、また、マイクロチャンネル16内を移動していったデキストランがリッチな相104は、第4分岐チャンネル17dを通過して第4ポート18dから水性分配用マイクロチップ10の外部へ流出されることになる。

【0061】これら第3ポート18cから流出したポリエチレングリコールがリッチな相102ならびに第4ポート18dから流出したデキストランがリッチな相104は、適宜の分析・細胞の回収などの目的で使用されることになる。

【0062】このように、この水性分配用マイクロチップ10を用いた微小物200の水性分配によれば、微小物200を連続的に分配することができるので、分配効率が向上して分配のための処理時間を短縮化することが可能となる。

【0063】また、水性分配用マイクロチップ10は、上記したように簡単な構成であるので、複数の水性分配用マイクロチップ10を多段化して配設した分配システムを構成しても、当該分配システム全体の大型化が抑止されて、当該分配システムの小型化、簡素化を図ることができるものである。

【0064】即ち、水性分配用マイクロチップ10は、微小物200を分配する処理を多段化するのに適したものである。

【0065】さらに、水性分配用マイクロチップ10を用いた微小物200の水性分配の処理は、複雑な処理の操作を必要としないので、処理の操作を自動化するのに適したものである。

【0066】ここで、上記した水性分配用マイクロチップ10を用いた水性分配においては、ポリエチレングリ

コールがリッチな水溶液を第1ポート18aから第1分岐チャンネル17a内に導入するとともに、デキストランがリッチな水溶液を第2ポート18bから第2分岐チャンネル17b内に導入し、マイクロチャンネル16内を移動していったポリエチレングリコールがリッチな相102は第3分岐チャンネル17cを通過して第3ポート18cから水性分配用マイクロチップ10へ流出され、また、マイクロチャンネル16内を移動していったデキストランがリッチな相104は第4分岐チャンネル17dを通過して第4ポート18dから水性分配用マイクロチップ10へ流出されるものとした。

【0067】しかしながら、マイクロチャンネル16における微小物200の分配の状況を観察することのみが必要な場合には、図4に示す本発明による水性分配用マイクロチップの第二の実施の形態である水性分配用マイクロチップ20のように、基板12に第3分岐チャンネル17cならびに第4分岐チャンネル17dを設けずに、第3ポート18cならびに第4ポート18dの代わりに表面板14に形成されたポート18e（ポート18eは、第1分岐チャンネル17aならびに第2分岐チャンネル17bが接続された側の反対側に位置するマイクロチャンネル16の端部16aと連通している。）から、マイクロチャンネル16内を移動していったポリエチレングリコールがリッチな相102ならびにデキストランがリッチな相104が水性分配用マイクロチップ20の外部へ流出されるようにしてもよい。

【0068】なお、図4に示す水性分配用マイクロチップ20において、水性分配用マイクロチップ10の構成と同一あるいは相当する構成については、図1(a)において用いた符号と同一の符号を用いて示した。

【0069】また、上記した水性分配用マイクロチップ10を用いた水性分配においては、ポリエチレングリコールがリッチな水溶液を第1ポート18aから第1分岐チャンネル17a内に導入するとともに、デキストランがリッチな水溶液を第2ポート18bから第2分岐チャンネル17b内に導入し、ポリエチレングリコールがリッチな相102とデキストランがリッチな相104とが界面100を介して同じ向きとなるように移動する並流としたが、ポリエチレングリコールがリッチな相102とデキストランがリッチな相104とが界面100を介して反対向きとなるように移動する向流としてもよい。

【0070】ここで、向流とする場合には、例えば、ポリエチレングリコールがリッチな水溶液を第1ポート18a（図1(a)において左上方に位置する。）から第1分岐チャンネル17a内に導入するとともに、デキストランがリッチな水溶液を第4ポート18d（図1(a)において右下方に位置する。）から第4分岐チャンネル17d内に導入する。

【0071】この場合には、図5に示すように、第1ポート17aから第1分岐チャンネル17a内に導入された

ポリエチレングリコールがリッチな水溶液は、界面100を介してポリエチレングリコールがリッチな相102としてマイクロチャンネル16内を矢印D方向（図5参照）へ移動して、第3分岐チャンネル17cを通過して第3ポート18cから水性分配用マイクロチップ10の外部へ流出され、一方、第4ポート17dから第4分岐チャンネル17d内に導入されたデキストランがリッチな水溶液は、界面100を介してデキストランがリッチな相104としてマイクロチャンネル16内を矢印E方向（図5参照）へ移動して、第2分岐チャンネル17bを通過して第2ポート18bから水性分配用マイクロチップ10の外部へ流出されるものである。

【0072】また、上記した水性分配用マイクロチップ10は、水性2相分配系に用いるのに適しているが、水性3相以上の水性多相分配系に本発明による水性分配用マイクロチップを用いるようにする場合には、その相数に応じて各種の水溶液をマイクロチャンネルに導入するポートや分岐チャンネルの数を設定すればよい。

【0073】即ち、本発明による水性分配用マイクロチップを水性3相分配系に用いるようにするには、例えば、図6に示す本発明による水性分配用マイクロチップの第三の実施の形態である水性分配用マイクロチップ30のように構成し、マイクロチャンネル16の両側の端部においてそれぞれ、マイクロチャンネル16から分岐される分岐チャンネルを3本ずつ形成するようにするとともに、当該3本ずつの分岐チャンネルにあわせてポートを形成する。

【0074】これにより、各ポートから各種の水溶液を、隣接する相が並流あるいは向流になるように適宜に導入すればよい。

【0075】また、一つのマイクロチャンネル16内において、並流と向流とが混在するようにしてもよいことは勿論である。

【0076】さらに、上記したように各種の水溶液をマイクロチャンネル16に導入するポートや分岐チャンネルの数は限定されるものではなく、例えば、水性分配の相数が4相であるときに使用する場合には、マイクロチャンネル16の両側の端部においてそれぞれ、マイクロチャンネル16から分岐される分岐チャンネルを4本ずつ形成するようにするとともに、当該4本ずつの分岐チャンネルにあわせて4個ずつポートを形成すればよく、水性分配の相数が5相であるときに使用する場合には、マイクロチャンネル16の両側の端部においてそれぞれ、マイクロチャンネル16から分岐される分岐チャンネルを5本ずつ形成するようにするとともに、当該5本ずつの分岐チャンネルにあわせて5個ずつポートを形成すればよい。

【0077】即ち、原則的には、水性分配の相数とマイクロチャンネル16の両側の端部においてそれぞれ形成される分岐チャンネルの数とは一致するものである。

【0078】なお、上記したように、原則的には、水性

10

20

30

40

50

分配の相数とマイクロチャネル16の両側の端部においてそれぞれ形成される分岐チャネルの数とは一致するものであるが、各種の水溶液をマイクロチャネル16に導入するポートや分岐チャネルの数は、マイクロチャネル16の両側の端部において必ずしも一致する必要はなく、マイクロチャネル16の一方の端部から分岐される分岐チャネルを7本形成するようにするとともに当該7本の分岐チャネルにあわせて7個のポートを形成し、一方、マイクロチャネル16の他方の端部から分岐される分岐チャネルを3本形成するようにするとともに当該3本の分岐チャネルにあわせて3個のポートを形成するようにしてもよい。

【0079】また、本発明による水性分配用マイクロチップを用いた水性分配方法に用いる水溶液としては、上記した実施の形態に示したポリエチレングリコールがリッチな水溶液およびデキストランがリッチな水溶液に限られず、例えば、2相以上の多相の分配を行う場合には、安定な3相以上の多相系になる組の水溶液を用いればよい。

【0080】さらに、2相のみが安定な系であっても、重力の影響が相対的に小さくなるマイクロチャネル内では、予め分離した2相を交互に導入することによって、3相以上の安定な流れを作り出すことも可能であるので、こうした2相のみが安定な系になる組の水溶液を用いればよい。

【0081】なお、水溶性ポリマー分配系の具体的な組成としては、例えば、以下に示すような物質が知られている。

【0082】1. 2種類のポリマーと水の組合せからなる水性2相分配系（塩類を添加する場合もある）

(1-1) ポリマーの種類：ポリエチレングリコール (polyethylene glycol)、デキストラン (dextran)、ポリプロピレングリコール (polypropylene glycol)、ポリビニルアルコール (polyvinyl alcohol)、ポリビニルピロリドン (polyvinyl pyrrolidone)、メチルセルロース (methylcellulose)、メトキシポリエチレングリコール (methoxypolyethylene glycol)、エチルヒドロキシエチルセルロース (ethylhydroxyethylcellulose)、ヒドロキシプロピルデキストラン (hydroxypropyldextran)、フィコール (Ficoll)、硫酸デキストラン (dextran sulfate)、カルボキシメチルデキストラン (carboxymethyldextran)、カルボキシメチルセルロース (carboxymethylcellulose)、ジエチルアミノエチルデキストラン (DEAE dextran)、レバン (levan)、可溶性デンプン (soluble starch)、ゼラチン、

寒天、アラビアゴム、ヘモグロビンまたは卵白アルブミンまたは血清アルブミンなどの水溶性タンパク質、核酸、および、これらのポリマーの誘導体など。

【0083】(1-2) 添加塩類：塩化ナトリウム (NaCl)、塩化カリウム (KCl)、塩化セシウム (CsCl)、塩化ルビジウム (RbCl)、塩化リチウム (LiCl)、硫酸リチウム (Li₂SO₄) など。

【0084】2. 1種類のポリマーと低分子物質と水の組合せからなる水性2相分配系

(2-1) ポリマーの種類：(1-1)に記載のポリマーのうちの1種である。

【0085】(2-2) 低分子物質：リン酸カリウム (potassium phosphate)、塩化ナトリウム (NaCl)、グルコース (glucose)、プロピルアルコール (propyl alcohol)、グリセロール (glycerol)、ブチルセロソルブ (butyl cellosolve, butyl beta-hydroxyethylether) など。

【0086】3. 2種類以上のポリマーと水とからなる水性多相分配系（塩類や低分子物質を添加する場合もある）

(3-1) ポリマーの種類：(1-1)に記載のポリマーのうちのいずれかである。

【0087】(3-2) 添加塩類の種類：(1-2)に記載の添加塩類のうちのいずれかである。

【0088】(3-3) 低分子物質の種類：(2-2)に記載の低分子物質のうちのいずれかである。

【0089】なお、上記した実施の形態は、以下の

(1) 乃至 (7) に示すように変形することができるものである。

【0090】(1) 上記した実施の形態においては、水性分配用マイクロチップ10、20、30は基板12の表面に表面板14を配置するようにしたが、これに限られるものではないことは勿論であり、基板12の表面に表面板14を配置しなくともよい。

【0091】(2) 上記した実施の形態においては、基板12の材料としてPDMSを用い、表面板14の材料としてPMMAを用いるようにしたが、これに限られるものではないことは勿論であり、基板12や表面板14の材料としては、各種の高分子材料やガラス、シリコンなどを用いるようにしてもよい。

【0092】(3) 上記した実施の形態においては、上記において図2(a)(b)(c)(d)(e)を参照しながら説明した製造プロセスにより水性分配用マイクロチップ10、20、30を製造するものとしたが、これに限られるものではないことは勿論であり、基板12の材料や表面板14の材料の種類に応じて、適宜の製造プロセスにより水性分配用マイクロチップ10、20、30を製造するようにしてもよい。

【0093】(4) 上記した実施の形態においては、マイクロチャンネル16はI字型状の直線型状としたが、これに限られるものではないことは勿論であり、I字型状の直線型状を組み合わせた折れ線形状や、C字型状やS字型状などのような任意の曲率の曲線を組み合わせた曲線型状や、直線型状や折れ線形状や曲線型状を適宜に組み合わせたような形状であってもよい。

【0094】(5) 上記した実施の形態においては、各分岐チャンネルの形状については詳細な説明は省略したが、各分岐チャンネルは、図1、図4ならびに図6に示すように、適宜の曲率をもった曲線型状に形成し、マイクロチャンネル16と滑らかに接続されるように配置することが好ましい。しかしながら、分岐チャンネルの形状は曲線型状に限定されるものではなく、I字型状の直線型状や、I字型状の直線型状を組み合わせた折れ線形状や、C字型状やS字型状などのような任意の曲率の曲線を組み合わせた曲線型状や、直線型状や折れ線形状や曲線型状を適宜に組み合わせたような形状であってもよく、マイクロチャンネル16と接続する際にも、接続点に角部を備えた折れ線型状としてもよい。

【0095】(6) 上記した実施の形態においては、マイクロチャンネル16や各分岐チャンネルの長さ、幅、深さは任意の値に設定できるものとしたが、マイクロチャンネル16と各分岐チャンネルとは、マイクロチャンネル16の端部に接続される分岐チャンネルの数によって、例えば、分岐チャンネルの数が増加した場合には、各々の分岐チャンネルの幅を狭くするように設定することが好ましい。

【0096】(7) 上記した実施の形態ならびに上記した(1)乃至(5)に示す変形例は、適宜に組み合わせるようにしてもよい。

【0097】

【発明の効果】本発明は、以上説明したように構成されているので、細胞、オルガネラ、タンパク質あるいは核酸などの粒子や分子などのような微小物を分配する処理を行う際における処理時間を短縮化することができるという優れた効果を奏する。

【0098】また、本発明は、以上説明したように構成されているので、細胞、オルガネラ、タンパク質あるいは核酸などの粒子や分子などのような微小物を分配する処理を多段化するのに適しているという優れた効果を奏する。

【0099】さらにまた、本発明は、以上説明したように構成されているので、細胞、オルガネラ、タンパク質あるいは核酸などの粒子や分子などのような微小物を分

配する処理を自動化に適しているという優れた効果を奏する。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明による水性分配用マイクロチップの第一の実施の形態を示し、図1(a)は図1(b)におけるA矢視図であり、図1(b)は図1(a)におけるB-B線による断面図である。

【図2】(a)(b)(c)(d)(e)は、水性分配用マイクロチップ10の製造プロセスを示す概略説明図である。

【図3】水性分配における微小物の分配を説明するための概念説明図である。

【図4】本発明による水性分配用マイクロチップの第二の実施の形態を示す、図1(a)に対応する説明図である。

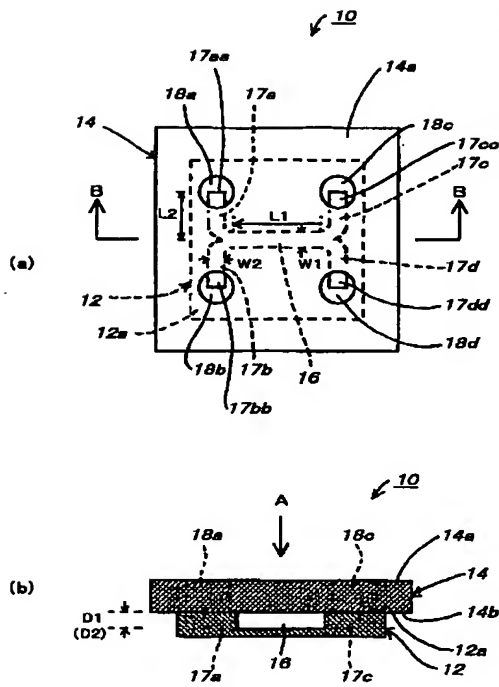
【図5】水性分配における微小物の分配を説明するための概念説明図である。

【図6】本発明による水性分配用マイクロチップの第三の実施の形態を示す、図1(a)に対応する説明図である。

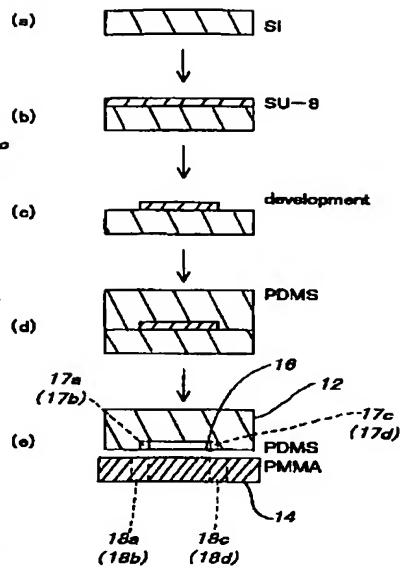
【符号の説明】

10、20、30	水性分配用マイクロチップ
12	基板
12a、14a	上面
14	表面板
14b	下面
16	マイクロチャンネル
16a、17aa、17bb、17cc、17dd	端部
17a	第1分岐チャンネル
17b	第2分岐チャンネル
17c	第3分岐チャンネル
17d	第4分岐チャンネル
18a	第1ポート
18b	第2ポート
18c	第3ポート
18d	第4ポート
18e	ポート
100	界面
102	ポリエチレングリコールがリッチな相
104	デキストランがリッチな相
200	微小物

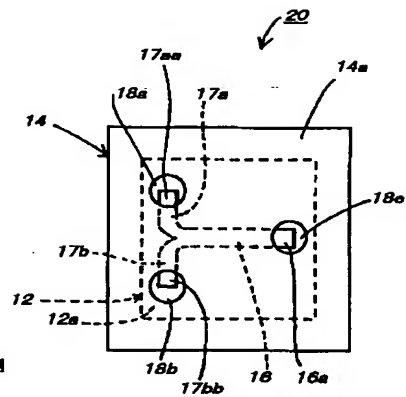
【図 1】



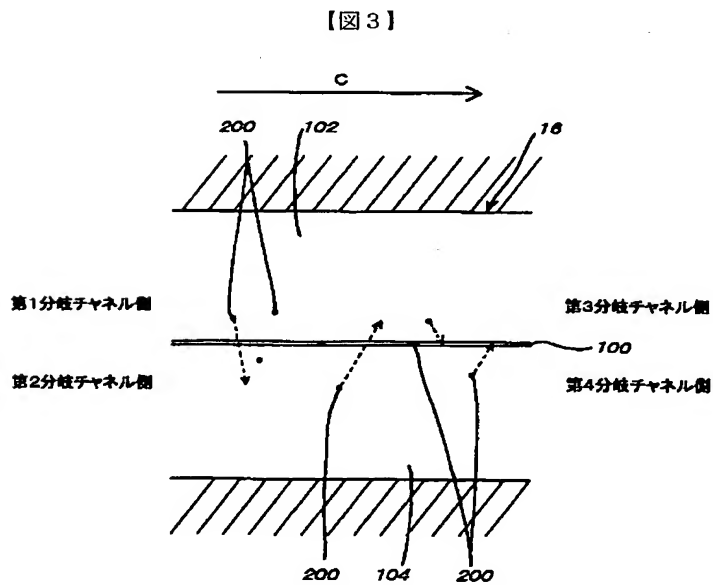
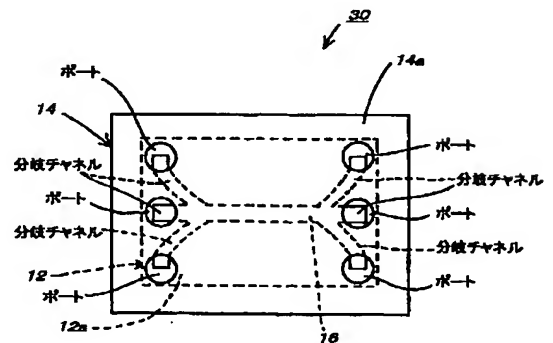
【図 2】



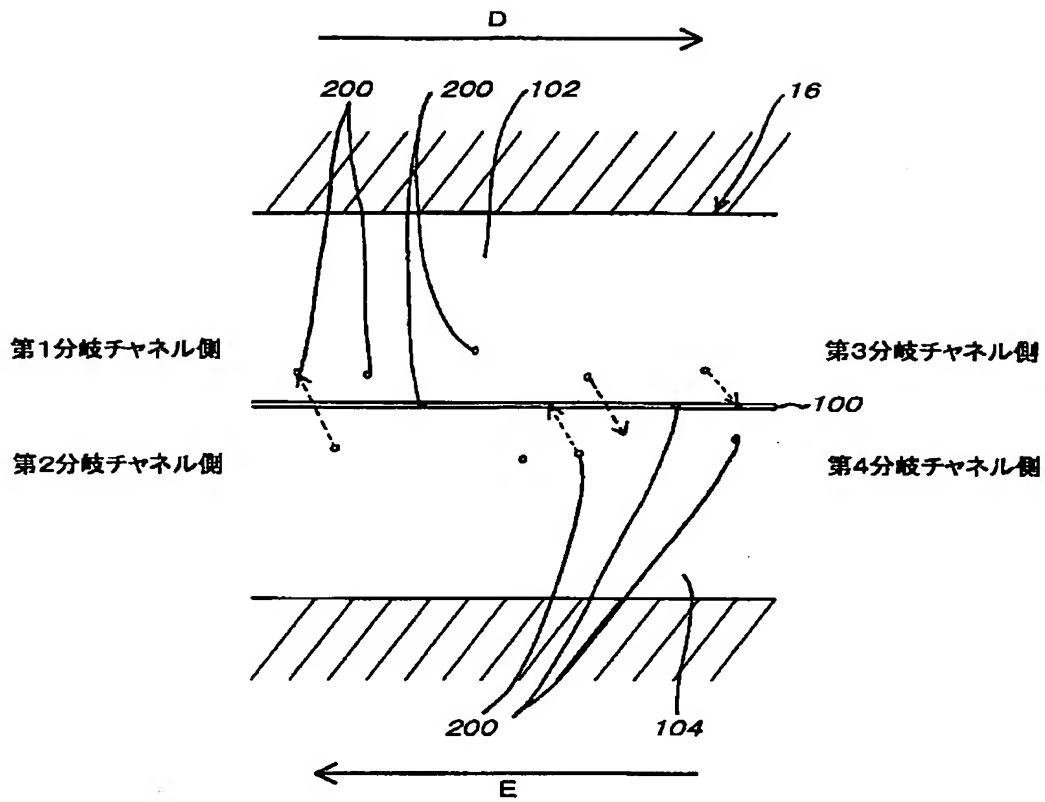
【図 4】



【図 6】



【図5】



フロントページの続き

(72)発明者 遠藤 勲
埼玉県和光市広沢 2 番 1 号 理化学研究所
内

F ターム(参考) 2G042 AA01 BD12 BD20 CB03 FC04
HA10
2G058 AA09 CC00 DA07
4B029 AA07 AA23 AA27 BB01 BB15
BB20 CC01 FA15
4D056 AB11 BA12 CA04 CA07 CA11